

不同取代度的羟丙基- β -环糊精与大豆苷元的包合作用

史丹丹, 张永利, 程开花, 徐宏斌, 王伟*, 李宝林

(陕西师范大学 化学与材料科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要:采用溶液搅拌法制备了6种不同取代度(DS)的羟丙基- β -环糊精($HP-\beta-CD$)与大豆苷元的包合物,并通过红外光谱法(IR), X射线衍射法(XRD), 紫外光谱法(UV)等对其进行了包合鉴定. 又采用相溶解度法计算了其中4种 $HP-\beta-CD$ /大豆苷元包合物的表观平衡常数(K_c), 研究了不同取代度的羟丙基- β -环糊精与大豆苷元的包合作用. 结果表明, 不同取代度的 $HP-\beta-CD$ 对大豆苷元均产生了包合作用, 且 $DS=7.8$ 的 $HP-\beta-CD$ /大豆苷元包合物的表观平衡常数最大($K_c=2.1627 \times 10^{-2}$), 达到了最佳的包合效果.

关键词:大豆苷元; 羟丙基- β -环糊精; 包合物; 相溶解度法

中图分类号: O 621.4; R 283.1

文献标识码: A

文章编号: 1008-1011(2009)01-0053-04

Inclusion Performance of Different Substitution Degrees of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin with Daidzein

SHI Dan-dan, ZHANG Yong-li, CHENG Kai-hua, XU Hong-bin, WANG Wei*, LI Bao-lin

(School of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, Shaanxi, China)

Abstract: Six inclusion complexes of daidzein and $HP-\beta-CD$ with suitable interval degrees of substitution were prepared by the solution stirring method. The complexes were characterized by infrared spectroscopy (IR), powder X-ray diffraction (XRD), ultra-violet spectroscopy (UV). The apparent equilibrium constants (K_c) of the four inclusion complexes were determined by using phase-solubility method. The effects of the substitution degrees of $HP-\beta-CD$ on preparation of the inclusion complex of $HP-\beta-CD$ /daidzein were investigated. The results showed that the inclusion complexes were produced and the best inclusion was at $DS=7.8$. The solubility of daidzein were greatly improved by $HP-\beta-CD$ with $DS=7.8$.

Keywords: daidzein; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complexes; phase-solubility method

羟丙基- β -环糊精($HP-\beta-CD$)是一种安全性高, 无毒副作用的药物辅料. 在增加水溶性, 提高药物稳定性, 改善药物生物利用度以及减少药物对人的刺激性方面起了重要的作用. 目前, 有关 $HP-\beta-CD$ 与难溶性药物形成包合物增加其水溶性, 改善溶解度和稳定性, 以增强药物生物利用度的报道较多^[1-2], 但关于 $HP-\beta-CD$ 取代度和取代位置对难溶性药物包合作用影响的研究国内外尚无报道. 大豆苷元为异黄酮类化合物, 是一种天然的植物雌激素. 研究表明其具有雌性激素样活性和弱的抗雌激素作用, 因而在抗肿瘤、心脑血管疾病、骨质疏松、抗氧化等方面表现出良好的治疗和预防作用^[3-4], 被广泛应用于药品和食品补充剂. 但大豆苷元的水溶性极差(溶解度为 $8.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 极大地影响了该药物在医药制剂上的应用和人体内的吸收

收稿日期: 2008-11-15.

作者简介: 史丹丹(1983-), 女, 硕士生, 研究方向为药物化学. * 通讯联系人.

利用. 作者选取自制的6种不同取代度(*DS*)的HP- β -CD,研究了不同取代度的HP- β -CD对大豆苷元包合作用的最佳效果,为进一步探讨不同取代度的HP- β -CD对天然黄酮类化合物的增溶作用提供了理论参考.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker AM-300 超导核磁共振仪(美国 Bruker 公司);EQUINX55 FT-IR 红外光谱仪(KBr 压片,德国 Bruker 公司);ALPHA1-2 型冷冻干燥机(德国 CHRIST 公司);D/Max-3c 型全自动 X 射线衍射仪(日本 Rigaku 公司). 测试条件:铜靶(50 kV,100 mV);波长 0.154 056 nm;扫描范围 5~40°;扫描速度 4°·min⁻¹.

大豆苷元(相对分子质量为 254.23,陕西惠科植物开发有限公司),羟丙基- β -环糊精(实验室自制,取代度分别为:4.2,6.0,7.1,7.8,8.7,9.4),其余试剂均为分析纯.

1.2 羟丙基- β -环糊精-大豆苷元包合物的制备

采用溶液搅拌法制备 6 种不同取代度的羟丙基- β -环糊精-大豆苷元包合物^[5]. 分别称取不同取代度的 HP- β -CD 2.5 g,配制成 10 mL 的 20% HP- β -CD 的水溶液,调节其 pH 12;再分别称取与以上 HP- β -CD 等摩尔比的大豆苷元粉末加入到配制好的溶液中,于 40 °C 下磁力搅拌 24 h,自然降温后,经 0.45 μ m(水系)微孔滤膜过滤,滤液冷冻干燥 24 h 即得.

1.3 标准曲线的制备与含量测定

精密称取 5.0 mg 大豆苷元粉末置于 50 mL 容量瓶中,以 50% 乙醇水溶液定容,配制成 0.1 g·L⁻¹ 的贮备液. 并取其少量进行紫外光谱扫描,确定标准曲线的扫描波长为 248 nm.

分别精密移取 0.05,0.1,0.5,1.0,1.5,2.0 mL 上述贮备液于 10 mL 容量瓶中,以 50% 乙醇溶液稀释至刻度,配制成 0.5,1.0,5.0,10.0,15.0,20.0 mg·L⁻¹ 的标准溶液. 以溶剂为空白,于 248 nm 处测其吸光度,得到线性回归方程 $A = 0.1066c + 0.0457$,相关系数 $r = 0.9996$.

精密称取 6 种包合物各 2.0 mg 于 10 mL 容量瓶中,用 50% 乙醇溶液定容,配制成浓度为 0.2 g·L⁻¹ 的溶液,进行紫外光谱扫描(248 nm),测其吸光度,代入标准曲线方程,计算出大豆苷元含量.

1.4 相溶解度实验

将 4 种取代度分别为 4.2,7.1,7.8,9.4 的 HP- β -CD 分别配制成不同质量分数(0%,0.1%,0.5%,1%,5%,10%)的水溶液,依次加入适量的大豆苷元粉末,水浴振荡器中避光振荡 24 h,静置平衡一周. 过滤,滤液稀释至 25 mL,精密移取 0.2 mL 于 10 mL 容量瓶中,以 50% 乙醇溶液定容,以溶剂为空白,于 248 nm 处测定其吸光度,代入回归方程,计算出大豆苷元在水中的溶解度. 以 HP- β -CD 浓度为横坐标,大豆苷元溶解度为纵坐标,分别绘制出这 4 种不同取代度的 HP- β -CD 对大豆苷元的相溶解度图(图略),并以大豆苷元溶解度($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对 HP- β -CD 浓度($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)进行线性回归,并根据公式: $K_c = \text{斜率} / S_0(1 - \text{斜率})$,计算各取代度包合物的表观稳定常数 K_c 值,其中斜率为回归方程的斜率, S_0 为 HP- β -CD 不存在时大豆苷元的固有溶解度.

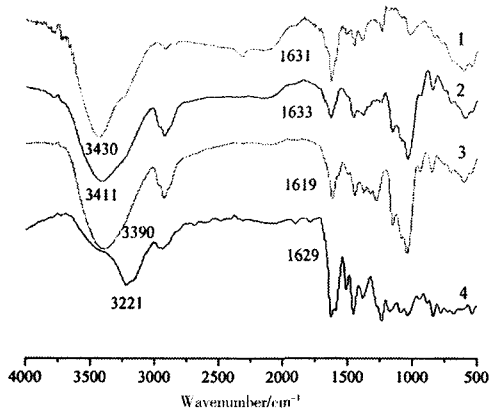
2 结果与讨论

2.1 红外光谱分析

由测得的各种样品的红外光谱结果显示,物理混合物和包合物的图谱明显不同. 几种物理混合物的图谱呈现药物和 HP- β -CD 的叠加峰型特征,而包合物中大豆苷元的特征吸收均有不同程度的减弱. 这表明 HP- β -CD 和大豆苷元产生了包合作用. 且由图谱分析比较,可知 *DS* 为 7.8 的包合物中大豆苷元的羰基峰红移程度最为明显(从 1 631 cm^{-1} 降至 1 619 cm^{-1}),结果见图 1.

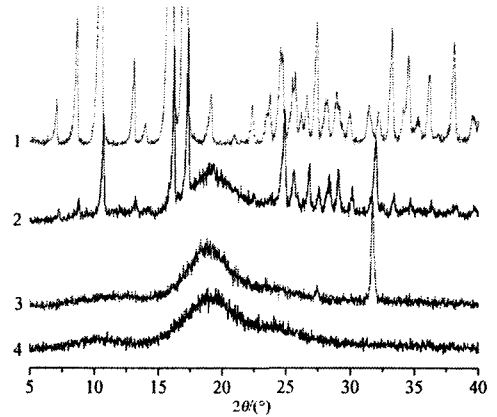
2.2 粉末 X 射线衍射分析

各种样品的 X 射线衍射图谱结果显示,几种物理混合物的图谱呈现大豆苷元的晶体衍射图谱与 HP- β -CD 的无定形衍射图谱的叠加,而包合物的衍射图谱则几乎覆盖了大豆苷元的晶体形貌,呈现了与 HP- β -CD 极为相似的衍射图谱,表明大豆苷元被 HP- β -CD 包合. 且由图谱分析比较,可知 *DS* 为 7.8 的 HP- β -CD/大豆苷元包合物衍射图谱叠加的最为明显,这与红外光谱分析结果相一致,结果见图 2.



1-大豆苷元,2-HP-β-CD,3-包合物,4-物理混合物
图 1 DS = 7.8 的 HP-β-CD/大豆苷元包合体系的红外光谱图

Fig. 1 The IR spectra of HP-β-CD/daidzein system with DS = 7.8



1-大豆苷元,2-物理混合物,3-HP-β-CD,4-包合物
图 2 DS = 7.8 的 HP-β-CD/大豆苷元包合体系的 X 射线衍射图谱

Fig. 2 The XRD spectra of HP-β-CD/daidzein system with DS = 7.8

2.3 含量测定

将测得的各样品的吸光度代入标准曲线方程,计算出大豆苷元含量. 各种包合物中大豆苷元的具体含量及包合比如表 1 所示,图 3 为大豆苷元含量随取代度变化的趋势图. 从趋势图中可以看出,大豆苷元的含量并不是随着 HP-β-CD 取代度的增加而增加,整个变化趋势基本呈一个抛物线型先增大后减小,在 HP-β-CD 的 DS 为 7.8 时,大豆苷元的含量最高,这说明对于制备 HP-β-CD/大豆苷元包合物来说,选取取代度 7.8 左右的 HP-β-CD 效果最好.

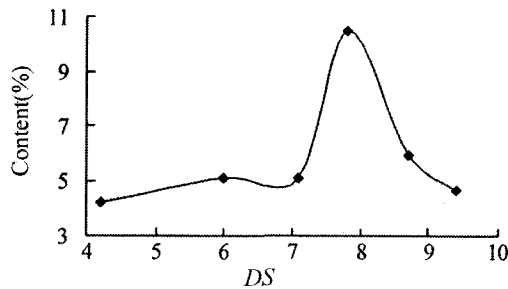


图 3 大豆苷元含量随 HP-β-CD 取代度变化趋势
Fig. 3 Change in daidzein contents with the degree of substitution of HP-β-CD

表 1 大豆苷元含量及各包合物包合比

Table 1 The contents of daidzein and inclusion ratio of inclusion complexes

DS	$C_{\text{daidzein}} (\%)$	包合比 ^a
4.2	4.21	4.20
6.0	5.13	3.17
7.1	5.10	3.06
7.8	10.5	1.36
8.7	5.95	2.45
9.4	4.68	3.08

^a 大豆苷元与 HP-β-CD 的摩尔比

2.4 相溶解度研究

根据 Higuchi 和 Connors 等的分类方法^[8],由 1.4 所绘制的相溶解度图分析可知,大豆苷元在水中的溶解度随着 HP-β-CD 浓度的增加而呈线性增加,该系列体系相溶解度图均属 A₁型. 表观稳定常数 K_c 是衡量包合物稳定性的重要参数^[9], K_c 值越大,HP-β-CD 对药物的包合作用越强. 经计算,所选 4 种 HP-β-CD/大豆苷元包合物的表观平衡常数如表 2 所示. 由表 2 可以看出,DS = 7.8 的 HP-β-CD/大豆苷元包合物表观平衡常数最大,说明 DS = 7.8 的 HP-β-CD 对大豆苷元的包合能力强于其它取代度的 HP-β-CD.

表 2 4 种取代度 HP-β-CD/大豆苷元包合物的表观平衡常数

Table 2 The apparent equilibrium constants (K_c) of the four inclusion complexes

DS	Eq	r	K_c
4.2	$y = 0.2557x + 22.335$	0.9899	1.9966×10^{-2}
7.1	$y = 0.2325x + 23.275$	0.9680	1.7606×10^{-2}
7.8	$y = 0.2712x + 23.298$	0.9808	2.1627×10^{-2}
9.4	$y = 0.2538x + 21.412$	0.9830	1.9767×10^{-2}

结论:取代度为 7.8 的 HP- β -CD 对大豆苷元的包合能力最强,可以达到更好的增溶效果.

参考文献:

- [1] Yuan C, Jin Z Y, Xu X M, *et al.* Preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Food Chem*, 2008, 109: 264 - 268.
- [2] Zoppetti G, Puppini N, Pizzutti M, *et al.* Water soluble progesterone-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex for injectable formulations [J]. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 2007, 57: 283 - 288.
- [3] Clarkson T B. Soy phytoestrogens: what will be their role in postmenopausal hormone replacement [J]. *Menopause*, 2000, 7: 71 - 75.
- [4] Wang H Z, Zhang Y, Xie L P, *et al.* Effect of genistein and daidzein on the cell growth, cell cycle, and differentiation of human and murine melanoma cells [J]. *J Nutr Biochem*, 2002, 13: 421 - 426.
- [5] 葛月宾, 陈大为, 谢利萍, 等. 大豆苷元-羟丙基- β -环糊精包合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(24): 2039 - 2041.
- [6] Stancanelli R, Mazzaglia A, Tommasini S, *et al.* The enhancement of isoflavones water solubility by complexation with modified cyclodextrins: A spectroscopic investigation with implications in the pharmaceutical analysis [J]. *J Pharmac Biomed Anal*, 2007, 44: 980 - 984.
- [7] Yang Z G, Gulisitan A, Cao Y, *et al.* Preparation and physicochemical characterization of quercetin-HP- β -CD inclusion complexes [J]. *J Chin Pharmac Sci*, 2006, 15(2): 69 - 75.
- [8] Higuchi T, Connors K A. Phase solubility techniques [J]. *Adv Anal Chem Instrum*, 1965, 4: 117 - 122.
- [9] 杨彩琴, 王伟, 詹文红. 相溶解度法研究羟丙基- β -环糊精对格列奇特的增溶效果[J]. 分析科学学报, 2004, 20(3): 331 - 332.

(上接第 52 页)

- [5] Vachon C, Labreche C, Vallee A, *et al.* Microphase separation and conductivity behavior of poly(propylene oxide)-lithium salt electrolytes [J]. *Macromolecules*, 1995, 28(16): 5585 - 5594.
- [6] Munichandraiah N, Scanlon L G, Marsh R A. Influence of zeolite on electrochemical and physico-chemical properties of polyethylene oxide solid electrolyte [J]. *J Appl Electrochem*, 1995, 25(9): 857 - 63.
- [7] Bruce P G, McGregor E S, Vincent C A. The perfectly polarized polymer electrolyte/electrode interface [J]. *Electrochimica Acta*, 1992, 37(9): 1525 - 1527.
- [8] Oldham K B. A Gouy-Chapman-Stern model of the double layer at a (metal)/(ionic liquid) interface [J]. *J Electroanal Chem*, 2008, 613(2): 131 - 138.
- [9] Armstrong R D, Horrocks B R. The double layer structure at the metal-solid electrolyte interface [J]. *Solid State Ionics*, 1997, 94(5): 181 - 187.
- [10] Macdonald J R. Impedance spectroscopy [J]. *Annals Biomed Engin*, 1992, 20(3): 289 - 305.
- [11] Bandeira M C E, Franco C V, Martini E. Electrochemical impedance spectroscopy of poly{pyrrole-trans[(RuCl₂(pmp)₄]} copolymer films deposited on platinum electrodes [J]. *J Solid State Electrochem*, 1999, 3(4): 210 - 214.